

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-323979

(43) 公開日 平成9年(1997)12月16日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 D 239/52			C 0 7 D 239/52	
A 6 1 K 31/505			A 6 1 K 31/505	
31/52			31/52	
31/70			31/70	
C 0 7 D 473/06			C 0 7 D 473/06	
審査請求 未請求 請求項の数 9 F D (全 9 頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号	特願平8-162524	(71) 出願人	000006138 明治乳業株式会社 東京都中央区京橋2丁目3番6号
(22) 出願日	平成8年(1996)6月4日	(72) 発明者	永淵 真也 東京都東村山市栄町1-21-3 明治乳業 株式会社栄養科学研究所内
特許法第30条第1項適用申請有り 平成8年3月5日 発行の「日本農芸化学会誌70巻臨時増刊号」に発表		(72) 発明者	片柳 知子 東京都東村山市栄町1-21-3 明治乳業 株式会社栄養科学研究所内
		(72) 発明者	高橋 毅 東京都東村山市栄町1-21-3 明治乳業 株式会社栄養科学研究所内
		(74) 代理人	弁理士 戸田 親男
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 核酸を用いた免疫調節組成物

(57) 【要約】

【解決手段】 ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸、その構成成分である塩基から選ばれる1種又は2種以上を有効成分として含有する免疫調節組成物。

【効果】 腸管免疫賦活作用、免疫応答修飾作用を有する医薬品タイプ又は飲食品タイプの組成物が提供される。

1

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸、その構成成分である塩基から選ばれる1種又は2種以上を有効成分として含有することを特徴とする免疫調節組成物。

【請求項2】免疫調節組成物が腸管免疫賦活組成物及び／又は免疫応答修飾組成物であることを特徴とする請求項1に記載の免疫調節組成物。

【請求項3】塩基が、アデニン、グアニン、ヒポキサンチン、キサンチン、シトシン、ウラシル、チミンから選ばれる1種又は2種以上であることを特徴とする請求項1又は請求項2に記載の免疫調節組成物。

【請求項4】ヌクレオシドが、ウリジン、アデノシン、グアノシン、シチジン、リボチミジン、デオキシアデノシン、デオキシグアノシン、デオキシウリジン、デオキシシチジン、チミジン、イノシン、キサントシンから選ばれる1種又は2種以上であることを特徴とする請求項1又は請求項2に記載の免疫調節組成物。

【請求項5】ヌクレオチドが、ヌクレオシドの糖部分にリン酸がエステル結合で結合してなる化合物であることを特徴とする請求項1～請求項4のいずれか1項に記載の免疫調節組成物。

【請求項6】核酸が、DNA、RNA、及び／又は、請求項5に記載のヌクレオチドが重合したポリヌクレオチドであることを特徴とする請求項1又は請求項2に記載の免疫調節組成物。

【請求項7】該有効成分が、酵母、細菌、乳、魚介類、動物、及び／又は植物由来のものであることを特徴とする請求項1～請求項6のいずれか1項に記載の免疫調節組成物。

【請求項8】該有効成分が、精製物、粗製物、及び／又は含有物であることを特徴とする請求項1～請求項7のいずれか1項に記載の免疫調節組成物。

【請求項9】該組成物が、医薬品タイプ、飲食品タイプ、及び／又は、培地添加物タイプの組成物であることを特徴とする請求項1～請求項8のいずれか1項に記載の免疫調節組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、免疫調節組成物に関し、更に詳細には、核酸及び／又はその成分を用いた腸管免疫賦活作用、免疫応答修飾作用等すぐれた免疫調節作用を有する組成物に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】人乳は、人工乳と比べて、ヌクレオチドや核酸を多く含む。核酸には、脾臓細胞のマイトジェン応答性、マクロファージやNK細胞の活性を高め(J. D. CarverらPediatrics 88: 359, 1991、H. JyonouchiらJournal of Nutrition 124 :475, 1994)、宿主の細菌に対する感染防御能を高める作用(A. D. Kulkarniら

2

Journal of Parenteral and Enteral Nutrition 10 : 169, 1986) が知られている。しかしながら、従来核酸が腸管免疫系のリンパ細胞に与える影響についての詳しい報告はなされていない。

【0003】一方、絶食や蛋白質の欠乏、手術や完全静脈栄養(TPN)等により、生体免疫系の活性が低下することが知られている(R. L. GrossらPhysiological Review 60 : 188, 1980)。また、宿主の生体免疫系の低下は、細菌に対する感染の確率を高めることになる(R. K. Chandra : Nutrition and Immunology 1, 1988)。特に腸管免疫系では、IgA産生が低下すると、細菌の生体への侵入(Bacterial Translocation)が起りやすくなり、この点の改良が求められている。

【0004】一方、生体免疫系において、ヘルパーT細胞には、1型ヘルパーT細胞(Th1)と2型ヘルパーT細胞(Th2)とが存在する。これらの内Th1細胞は、IL-2、IFN- $\gamma$ を産生し、IgG2aの産生を誘導し、遅延型過敏反応を高める。それに対し、Th2細胞はIL-4、IL-5、IL-6、IL-10を産生し、IgE、IgG1の産生を誘導する。生産されたこれらのサイトカインは相互に作用し合って、免疫、アレルギー反応を調節する。例えば、Th1細胞の産生するIFN- $\gamma$ は、Th2細胞の活性を抑制し、Th2細胞の産生するIL-4、IL-10は、Th1細胞の活性を抑制する。Th1およびTh2細胞に対するヌクレオチドや核酸の作用の面から見ると、これまで、in vitroでTh1とTh2細胞のクローンにヌクレオチドを添加した場合には、ヌクレオチドの添加はサイトカインの産生パターンにほとんど影響を与えず、Th1細胞がTh2細胞よりも強く活性化されるという結果は得られていない(H. Jyonouchi : Journal of Nutrition 124 : 138S, 1994)。しかし、経口摂取したヌクレオチドや核酸が、サイトカイン及び抗体の産生パターンに与える影響に関するin vivoでの報告はほとんどなく、まだ十分明らかにされていない。

【0005】Th1細胞とTh2細胞のバランスにおいて、喘息、花粉症、アトピー性皮膚炎などのI型アレルギーでは、Th2細胞が優位な状態になっていることが知られている。また、HIVの感染においてもTh2細胞が優位になることが報告されている。さらに、Th1細胞が優位になることにより、マクロファージや細胞障害性T細胞、NK細胞の活性を促進し、ガンに対する抵抗性が上昇することが知られている。これまで、Th1細胞とTh2細胞のバランスを修飾する物質として、IL-12が知られている。IL-12はマクロファージ、B細胞、肥満細胞などから産生され、NK細胞やTh1細胞の活性を高めるサイトカインである。IL-12はTh1細胞とTh2細胞のバランスをTh1細胞が優位な方向に誘導することにより、抗腫瘍効果、抗アレルギー効果、HIVの抑制効果などを示す。しかし、I

Ｌ－１２は医薬品であり、臨床分野で使用されているにすぎない。ＩＬ－１２のような活性を有し、食品などにも広範に応用できる物質はこれまで知られていなかった。

#### 【０００６】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、このような技術の現状に鑑み、上記した当業界のニーズに応える目的でなされたものであって、経口摂取も可能な免疫調節組成物を新たに開発する目的でなされたものである。

#### 【０００７】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成する為、本発明者らは、ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸（RNA、DNA）又はその構成成分である塩基を任意の割合で配合して、それを自由摂取したマウスのパイエル板細胞のIgA産生能やマイトジェン応答性に与える影響を調べた結果、ヌクレオチド、ヌクレオシド及び核酸（RNA、DNA）にパイエル板細胞の活性の低下を抑制する作用があることを見出した。

【０００８】また、本発明者らは、ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸（RNA、DNA）又はその構成成分である塩基を任意の割合で配合して、それを経口摂取したマウスの血清中の抗体のクラスや脾臓細胞の産生するサイトカインへの影響を調べた結果、ヌクレオチド、ヌクレオシド及び核酸（RNA、DNA）はTh1、Th2細胞のバランスをTh1細胞が優位な状態にする作用を有することを見出した。

【０００９】以上より、ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸（RNA、DNA）又はその構成成分である塩基は、腸管免疫系のリンパ細胞の活性化及びI型アレルギー、細菌への感染、ガンやHIVの予防や治療に有効であるとの有用新知見を得た。

【００１０】本発明は、これらの有用新知見に基づき、更に検討した結果遂に完成されたものであって、ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸、及び／又は、その構成成分である塩基を有効成分として含有する免疫調節組成物を基本的技術思想とするものである。以下、本発明について詳述する。

#### 【００１１】

【発明の実施の形態】本発明は、核酸（RNA、DNA）やヌクレオチド、ヌクレオシドまたはその構成成分である塩基を食品や薬品などに添加することにより、腸管免疫系のリンパ細胞の活性を高め、それによって、細菌感染への抵抗性を高め、その予防や治療を行えるようにするものである。この点を解決すべく、発明者らは、経口摂取されたヌクレオチドが腸管免疫系に与える影響をパイエル板細胞のマイトジェン応答性、IgA産生能を比較することにより検討した。

【００１２】すなわち、3週齢のマウス（BALB/c）に、母乳とほぼ同じ組成のヌクレオチドを0.4%添加した飼料と無添加の飼料を4週間自由摂取させて、

パイエル板細胞の増殖能及びIgA産生能を比較した。その結果、両群間でこれらの値にほとんど差が認められなかった。また、3週齢のマウスに上記と同じ2種類の飼料を4週間摂取させた後、2日間の絶食という形で、ストレスを与えたところ、両群間のパイエル板細胞のIgA産生能にConA刺激下で差が見られ、ヌクレオチド添加食が有意に高かった。

【００１３】以上の結果より、通常の食餌状態では、腸管免疫系に対するヌクレオチドの影響は潜在化しているものの、絶食によるストレス下では、ヌクレオチドはパイエル板リンパ細胞のIgA産生能や増殖能の低下を抑制する作用を有することが示唆された。すなわち、核酸（RNA、DNA）やヌクレオチド、ヌクレオシドまたはその構成成分である塩基は、絶食やタンパク質の欠乏、手術や完全静脈栄養（TPN）時などのストレス時における細菌やウィルス、酵母などの感染症の予防や治療に有効であると考えられる。

【００１４】さらに、本発明は、核酸（RNA、DNA）やヌクレオチド、ヌクレオシドまたはその構成成分である塩基を食品や薬品などに添加することにより、Th1、Th2細胞のバランスをTh1細胞が優位な状態にし、それによって、Th2細胞が優位な状態で起こりやすくなるアトピー性皮膚炎、喘息、花粉症などのI型アレルギーの治療や予防を行うことである。また、Th1細胞を優位な状態にすることで、HIV、ガンや細菌感染への抵抗性を高め、その予防や治療を行うこともできるようにするものである。

【００１５】この点を解決すべく、さらに、発明者らは、経口摂取されたヌクレオチドが生体内のTh1、Th2細胞のバランスに与える影響をヌクレオチド摂取マウスの血清IgE、IgG1、IgG2a濃度を対照マウスと比較することにより検討した。また、このときの脾臓細胞を培養し、その上清中のIFN- $\gamma$ 、IL-4濃度をELISAで測定した。

【００１６】すなわち、発明者らは、10週間、上述のヌクレオチドをマウス（BALB/c）に経口摂取させ、マウスの血清中のIgE濃度を測定した。その結果、ヌクレオチド添加食（NT食）のマウスでは、ヌクレオチド無添加食（Control食）のマウスに比べ、血清中のIgE濃度の上昇が有意に抑えられた。また、上記と同様に、2世代にわたってヌクレオチドを経口摂取したマウスの血清中のIgG1、IgG2a濃度を測定した結果、IgG1とIgG2aの濃度比（IgG1/IgG2a）がヌクレオチド添加食で有意に低下した。また、NT食、Control食をマウスに自由摂食させ、その脾臓細胞の培養上清中のIFN- $\gamma$ 、IL-4濃度についてELISAで測定した。その結果、IFN- $\gamma$ 濃度については、Control食よりNT食の方が有意に上昇していた。一方、IL-4については、NT食よりControl食の方が有意に上昇して

いた。これらの結果より、ヌクレオチドの飼料への添加により、生体内のTh1細胞とTh2細胞のバランスがTh1細胞側に傾くことが示唆された。Th1細胞が優位になると、IFN- $\gamma$ 産生が上昇し、Th2細胞の誘導するIgE産生が抑えられるので、ヌクレオチドの経口摂取は、アトピー性皮膚炎、喘息、花粉症などのI型アレルギーの抑制につながるものと期待される。また、Th1細胞を優位な状態にすることで、核酸(RNA, DNA)やヌクレオチド、ヌクレオシドまたはその構成成分である塩基は、HIV、ガンや細菌感染への抵抗性を高め、その予防や治療を行うことができる。

【0017】以上述べたように、そしてまた下記する試験例、実施例からも明らかなように、本発明は、ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸、その構成成分である塩基から選ばれる1種又は2種以上を有効成分として含有する免疫調節組成物を基本的技術思想とするものであって、本組成物は、すぐれた腸管免疫賦活能、免疫応答調節能等の生理活性を有するものであり、本有効成分は本来食品中に含まれるものであって安全性についても問題がなく、各種のタイプに使用することができる。

【0018】本組成物は、例えば、ヒト又は動物用の医薬品、飲食品、調製粉乳、経腸栄養剤、健康飲食品、飼料添加物、培養細胞の培地添加物等各種タイプの組成物として実用に供することができる。また、投与方法は、経口投与、静脈内投与、患部への直接投与のどの方法で用いてもよい。

【0019】本組成物において使用する有効成分に関し、ここでいう塩基は、アデニン、グアニン、ヒポキサンチン、キサンチン、シトシン、ウラシル、チミンのことである。ここでいうヌクレオシドは、ウリジン、アデノシン、グアノシン、シチジン、リボチミジン、デオキシアデノシン、デオキシグアノシン、デオキシウリジン、デオキシシチジン、チミジン、イノシン、キサントシンのことである。ここでいうヌクレオチドは、ヌクレオシドの糖部分にリン酸がエステル結合で結合している化合物のことで、結合するリン酸の位置はどこでもよく、結合するリン酸の数もいくつでもよい。また、例えば、1つのリン酸が5', 3'位の両方に結合する化合物もヌクレオチドに含める。この場合も結合するリン酸の数や位置はどこでもよい。ここでいう核酸は、DNA、RNAなどのポリヌクレオチドや上記したヌクレオチドが結合したポリヌクレオチドのことである。

【0020】有効成分の配合量は、任意でよいが、使用目的(予防、保健、又は治療)、患者の年齢、投与方法、剤型等に応じて適宜定めればよく、通常、0.0001~10%の範囲が適当である。しかしながら、長期間に亘って保健上ないし健康維持の目的で摂取する場合

グアニジン5'-リン酸2ナトリウム 14.22%  
シチジン5'-リン酸 39.5%

効成分は、安全性について問題がないので、上記範囲よりも多量に使用しても一向にさしつかえない。現にマウスを用いた10日間の急性毒性試験の結果、1000mg/kgの経口投与でも死亡例は認められなかった。

【0021】ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸(RNA, DNA)またはその構成成分である塩基の由来は、酵母、細菌、乳、魚介類、動物、植物など制限はない。また、核酸(RNA, DNA)やヌクレオチド、ヌクレオシドまたはその構成成分である塩基の精製方法についても制限はなく、完全に精製されていないものを用いてもよい。したがって、精製物のほか、粗製物、含有物等も自由に使用することができ、乾燥品~ペースト状物~液状ないし懸濁状物にした処理物も広く使用することができる。

【0022】飲食品タイプの組成物として使用する場合には、本有効成分(その処理物)をそのまま、使用したり、他の食品ないし食品成分と併用したりして適宜常法にしたがって使用できる。本有効成分を用いる本発明に係る組成物は、固体状(粉末、顆粒状その他)、ペースト状、液状ないし懸濁状のいずれでもよいが、甘味料、酸味料、ビタミン剤その他ドリンク剤製造に常用される各種成分を用いて、健康ドリンクに製剤化すると好適である。

【0023】医薬品タイプの組成物として使用する場合、本有効成分は、種々の形態で投与される。その投与形態としては例えば錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤等による経口投与をあげることができる。これらの各種製剤は、常法に従って主薬に賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、矯味矯臭剤、溶解補助剤、懸濁剤、コーティング剤などの医薬の製剤技術分野において通常使用しうる既知の補助剤を用いて製剤化することができる。その使用量は症状、年齢、体重、投与方法および剤形等によって異なるが、通常は、成人に対して、1日当たり、静脈投与の場合は、体重1kg当たり、0.01mg~1000mgを投与することができ、筋肉投与の場合は同じく0.01mg~1000mgを投与することができる。また、経口投与の場合には同じく0.5~2000mg、好ましくは1~1000mgの範囲内で投与するのがよい。

【0024】以下に、本発明の試験例を示す。

【0025】

【試験例1】以下の割合で配合したヌクレオチドを0.4%添加した食餌(NT食)およびヌクレオチド無添加の食餌(Control食)をそれぞれマウス(BALB/c)に3週齢から7週齢まで自由摂取させ、小腸パイエル板細胞のIgA産生能およびマイトジェン応答性について検討した。

7

ウリジン5' - リン酸2ナトリウム	19.72%
イノシン5' - リン酸2ナトリウム	26.56%

【0026】小腸パイエル板細胞は、マイトジェン (ConA:  $4\mu\text{g}/\text{ml}$ 、LPS:  $50\mu\text{g}/\text{ml}$ 、PHA:  $50\mu\text{g}/\text{ml}$ ) とともに1%の同系マウス血清を添加したRPMI培地で培養した。マイトジェン応答性については、パイエル板細胞を72時間培養し、 $^3\text{H}$ -TdRを $1\mu\text{Ci}$ 添加し、 $^3\text{H}$ -TdRの細胞への取り込みを液体シンチレーションカウンターで測定した。また、IgA産生能の測定については、パイエル板細胞を5日間培養し、その培養上清中のIgA濃度をELISAで測定した。

【0027】小腸パイエル板細胞のマイトジェン応答性やIgA産生能を測定した結果、LPS (リボポリサッカライド: B細胞を刺激するマイトジェン)、ConA、PHA (コンカナバリンA、フィトヘマグルチニン: T細胞を刺激するマイトジェン) のいずれのマイトジェンを用いた場合も、NT食とControl食で小腸パイエル板細胞のマイトジェン応答性 (図1) やIgA産生能 (図2) に有意差はなかった。また、マイトジェンによる刺激を行わなくとも、小腸パイエル板細胞のマイトジェン応答性 (図1) やIgA産生能 (図2) に有意差はなかった。

【0028】

【試験例2】NT食およびControl食をそれぞれマウス (BALB/c) に3週齢から7週齢まで自由摂取させ、2日間絶食を行った。絶食後の小腸パイエル板細胞のIgA産生能およびマイトジェン応答性について検討した。

【0029】上述の方法で、小腸パイエル板細胞のマイトジェン応答性やIgA産生能を測定した結果、LPS刺激下では、NT食とControl食で小腸パイエル板細胞のマイトジェン応答性 (図3) やIgA産生能 (図4) に有意差は見られなかった。しかし、ConAあるいはPHAで刺激した場合は、NT食でマイトジェン応答性及びIgA産生能が有意に高くなった。また、この場合、マイトジェンによる刺激を行わなくとも、NT食で有意にマイトジェン応答性及びIgA産生能が高くなった。したがって、絶食という形でストレスを与えると、ヌクレオチドはパイエル板中のT細胞の活性の低下を抑制する作用があることが示唆された。以上2つの試験例より、経口摂取されたヌクレオチドは潜在的に腸管免疫系のT細胞に対する活性化能を有するが、その影響は特\*

グアノシン5' - リン酸2ナトリウム	14.22%
シチジン5' - リン酸	39.5%
ウリジン5' - リン酸2ナトリウム	19.72%
イノシン5' - リン酸2ナトリウム	26.56%

【0035】なお、本発明による育児用粉乳を製造するにあたり、ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸 (RNA, DNA) またはその構成成分である塩基は、上記の

8

\*に絶食のようなストレス下で顕著であることが示唆された。

【0030】

【試験例3】上述のNT食およびControl食をそれぞれマウス (BALB/c) に10週間自由摂取させ (1群20匹)、血清中のIgE濃度をELISAで測定した。その結果、血清中のIgE濃度について、NT食を摂取したマウスの方が、Control食に比べIgEの上昇が有意に抑制された (図5)。

【0031】

【試験例4】NT食およびControl食をそれぞれマウス (BALB/c) に2世代にわたって摂取させ、血清中のIgG1およびIgG2a濃度について検討した。仔マウスは3週齢で離乳させ、その後3週間NT食とControl食を自由摂取した。この仔マウスの血清中のIgG1およびIgG2a濃度についてELISAで測定した。IgG1/IgG2aの比について、NT食のマウスの方が有意に低くなった (図6)。

【0032】

【試験例5】NT食およびControl食をそれぞれ3週齢のマウス (BALB/c) に10週間自由摂取させた後、マウスを解剖し、その脾臓細胞を $1\mu\text{g}/\text{ml}$ のConAとともにRPMI1640培地で培養した。培養1日後、その上清中のIFN- $\gamma$ 濃度についてELISAで測定した。また、脾臓細胞を $10\mu\text{g}/\text{ml}$  PWMとともにRPMI1640培地で培養し、培養3日後の上清のIL-4濃度についてELISAで測定した。その結果、IFN- $\gamma$ 濃度については、Control食よりNT食の方が有意に上昇していた (図7)。また、IL-4濃度については、Control食の方がNT食に比べ、有意に高くなった (図8)。これより、経口摂取されたヌクレオチドは生体免疫系においてTh1細胞の活性を高めることがサイトカイン産生の面からも示唆された。

【0033】以下に本発明の実施例を示す。

【0034】

【実施例1】ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸 (RNA, DNA) またはその構成成分である塩基の混合物0.01%を市販の育児用調製粉乳 (明治乳業 (株) 製) に以下の割合で配合した。

使用量を1例として使用することができるが、本発明においては、粉乳1gあたり、0.1mg、好ましくは0.01~4mgを使用すればよい。しかしながら、一

般にヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸（RNA、DNA）またはその構成成分である塩基は、魚介類や肉などの食品に含まれているので安全である。したがって、上記範囲を越えて使用しても何ら差し支えはないし、予防ないし保健を目的とする場合は、上記範囲よりも少量使用してもよい。また、育児用粉乳以外の飲食品を調製する場合も、上記範囲を参考にしてヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸または塩基の使用量を定めればよい。

#### 【0036】

【実施例2】ビタミンC 20gまたはビタミンCとクエン酸の等量混合物20g、グラニュー糖50g、コーンスターチと乳糖の等量混合物30gに、ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸（RNA、DNA）またはその構成成分である塩基を20g加えて十分に混合した。混合物を100等分して袋に詰め、1袋1.1gのスティック状栄養健康食品を100袋製造した。

#### 【0037】

【実施例3】次の配合により免疫応答修飾剤または腸管免疫賦活剤を製造した。（1）ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸（RNA、DNA）またはその構成成分である塩基を50g、（2）ラクトース90g、（3）コーンスターチ29g、（4）ステアリン酸マグネシウム1g。まず、（1）、（2）、（3）（但し17g）を混合し、（3）（但し7g）から調製したペーストとともに顆粒化した。得られた顆粒に（3）（但し5g）と（4）を加えてよく混合し、この混合物を圧縮錠剤機により圧縮して、1錠あたりヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸（RNA、DNA）またはその構成成分である塩基を10mg含有する錠剤1000個を製造した。

【0038】投与量は、患者の症状、年齢によっても異なるが、0.1~1500mg/kg/dayで1日1~4回投与する。本発明において用いるヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸（RNA、DNA）、塩基は、本来食品由来のものであり、既述のように安全性にほとんど問題はなく、したがって、上記用量を越えて、投与しても差し支えはない。また、健康の維持増進、保健栄養剤等としてこれを利用する場合は、上記用量より少ない量を長期間にわたって服用すればよい。また、既述のように本発明による錠剤は、経口投与以外の方法でも投与することができるが、静脈投与および筋肉投与の場合は

#### 【0039】

【実施例4】次の配合を用意した。（1）ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸（RNA、DNA）またはその構成成分である塩基1g、（2）塩化ナトリウム8g、（3）クロロブタノール4g、（4）炭酸水素ナトリウム1g。全成分を蒸留水1000mlに溶解し、これを500mlの点滴ビン2本に分注し、免疫応答修飾剤または腸管免疫賦活剤を製造した。

#### 【0040】

【発明の効果】本発明では、ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸（RNA、DNA）やその構成成分である塩基が、ストレス時における腸管免疫系のリンパ細胞の抗体産生能や増殖能の低下を抑制する作用を利用するものである。腸管免疫系は、消化管における細菌感染やBacterial translocationの防御や食物アレルギーのアレルゲンの生体内への侵入の予防に中心的な役割を果たしている。核酸（RNA、DNA）やヌクレオチド、ヌクレオシドまたはその構成成分である塩基の自由摂取により、

10 パイエル板細胞による抗体産生を増強し、感染症や食物アレルギーの生体への侵入阻止に有効である。

【0041】本発明によるヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸（RNA、DNA）やその構成成分である塩基は、経口投与が可能であり、絶食やタンパク質の欠乏、手術や完全静脈栄養（TPN）などのストレス時において、食物アレルギーや細菌感染への抵抗性を高め、その予防や治療を目的として、医薬品、飲食品、飼料の素材としても用いることができる。

【0042】ところで、T細胞は、免疫反応において調節細胞、効果細胞として、中心的な役割を果たしている。ヘルパーT細胞はサイトカインや抗体のクラス9の産生パターンに基づいて、機能的にも異なったTh1とTh2のサブセットに分類され、Th1、Th2細胞のバランスが免疫反応の方向性を規定している。例えば、アレルギーの観点からは、Th1細胞が優位になると、遅延型過敏症（IV型アレルギー）の発症に、またTh2細胞は即時型過敏症（I型アレルギー）の発症に関与する。このようにTh1、Th2細胞間の不均衡がアレルギーの発症や疾患に関与する。ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸（RNA、DNA）やその構成成分である塩基は、Th1、Th2細胞のバランスをTh1優位な状態にできる。

【0043】従来の栄養組成物には、生体内の上記Th1およびTh2細胞の機能の修飾の観点からヌクレオチドを配合するという概念はない。これに対し、上述の理由により、ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸（RNA、DNA）やその構成成分である塩基は、Th2優位な状態で生じる喘息、花粉症、アトピー性皮膚炎などのI型アレルギーの予防と治療を目的として、医薬品、飲食品、飼料の素材として用いることができる。また、Th1細胞を優位な状態にすることで、ヌクレオチド、ヌクレオシド、核酸（RNA、DNA）やその構成成分である塩基は、HIV、ガンや細菌感染への抵抗性を高め、その予防や治療を目的として、医薬品、飲食品、飼料の素材としても用いることができる。しかも、核酸（RNA、DNA）やその成分であるヌクレオチド、ヌクレオシド、塩基は、日常的に食べられている魚介類や肉類に多く含まれるため、安全性の点でも問題がない。

#### 【図面の簡単な説明】

50 【図1】3週齢からControl、NT食をそれぞれ

## II

12

4週間自由摂取したマウス (BALB/c) のパリエル板細胞のマイトジェン応答性を示す。

【図2】3週齢からControl、NT食をそれぞれ4週間自由摂取したマウス (BALB/c) のパリエル板細胞のIgA産生能を示す。

【図3】3週齢からControl、NT食をそれぞれ4週間自由摂取した後、2日間絶食したマウス (BALB/c) のパリエル板細胞のマイトジェン応答性 (\* ;  $P < 0.05$ ) を示す。

【図4】3週齢からControl、NT食をそれぞれ4週間自由摂取した後、2日間絶食したマウス (BALB/c) のパリエル板細胞のIgA産生能 (\* ;  $P < 0.05$ ) を示す。

0.05) を示す。

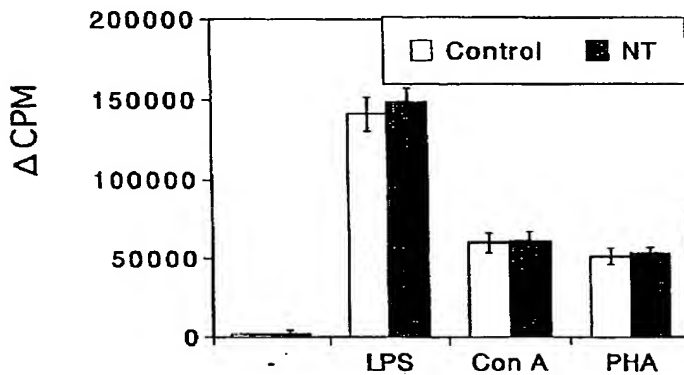
【図5】3週齢からControl、NT食をそれぞれ10週間自由摂取したマウス (BALB/c) の血清中のIgE濃度 (\* ;  $P < 0.05$ ) を示す。

【図6】2世代にわたって、Control、NT食をそれぞれ自由摂取したマウス (BALB/c) の血清中のIgG1とIgG2aの濃度比 (IgG1/IgG2a) (\* ;  $P < 0.05$ ) を示す。

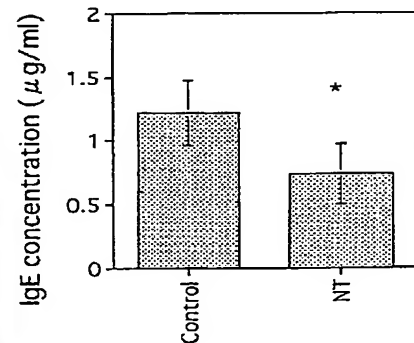
【図7】マウス (BALB/c) の脾臓細胞培養上清中のIFN- $\gamma$ 濃度 (\* ;  $P < 0.05$ ) を示す。

【図8】マウス (BALB/c) の脾臓細胞培養上清中のIL-4濃度 (\* ;  $P < 0.05$ ) を示す。

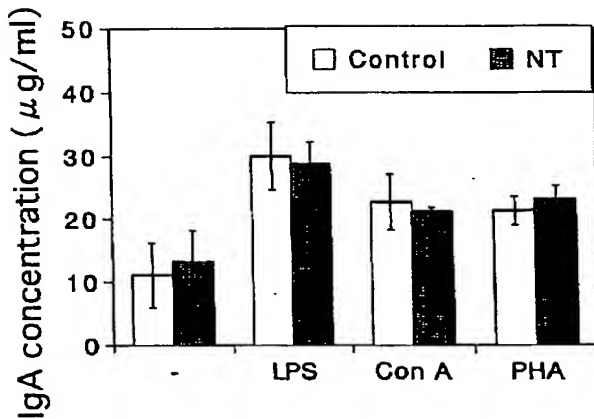
【図1】



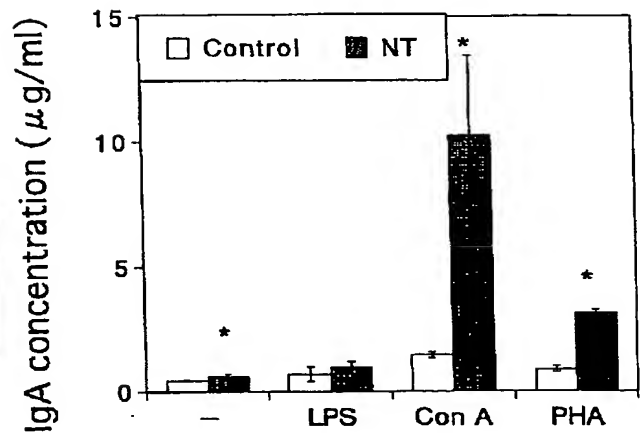
【図5】



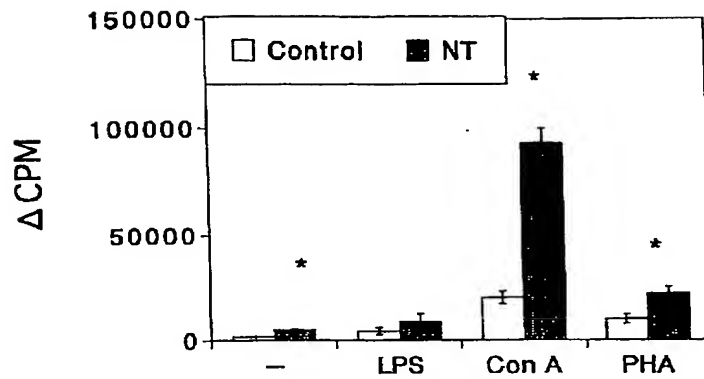
【図2】



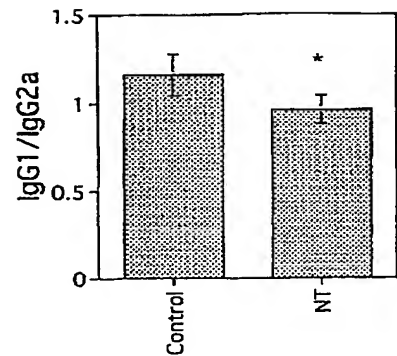
【図4】



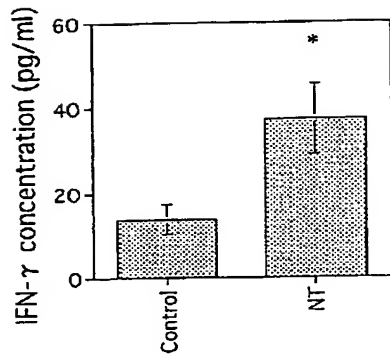
【図3】



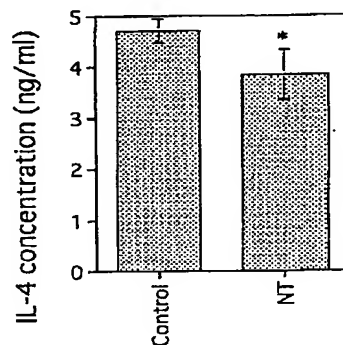
【図6】



【図7】



【図8】



## 【手続補正書】

【提出日】平成8年10月1日

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0013

【補正方法】変更

## 【補正内容】

【0013】以上の結果より、通常の食餌状態では、腸管免疫系に対するヌクレオチドの影響は潜在化しているものの、絶食によるストレス下では、ヌクレオチドはパイエル板リンパ細胞のIgA産生能や増殖能の低下を抑制する作用を有することが示唆された。すなわち、核酸(RNA, DNA)やヌクレオチド、ヌクレオシドまたはその構成成分である塩基は、絶食やタンパク質の欠乏、手術や完全静脈栄養(TPN)時などのストレス時

における細菌やウイルス、酵母などの感染症の予防や治療に有効であると考えられる。

## 【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0025

【補正方法】変更

## 【補正内容】

【0025】

【試験例1】以下の割合で配合したヌクレオチドを0.4%添加した食餌(NT食)およびヌクレオチド無添加の食餌(Control食)をそれぞれマウス(BALB/c)に3週齢から7週齢まで自由摂取させ、小腸パイエル板細胞のIgA産生能およびマイトジェン応答性について検討した。

グアノシン	5' -	ーリン酸2ナトリウム	14.22%
シチジン	5' -	ーリン酸	39.5%
ウリジン	5' -	ーリン酸2ナトリウム	19.72%
イノシン	5' -	ーリン酸2ナトリウム	26.56%



## フロントページの続き

(51) Int. Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 D 473/18			C 0 7 D 473/18	
473/34	3 1 1		473/34	3 1 1
C 0 7 H 21/00			C 0 7 H 21/00	
(72) 発明者 米久保 明得			(72) 発明者 桑田 有	
東京都東村山市栄町 1-21-3 明治乳業			東京都東村山市栄町 1-21-3 明治乳業	
株式会社栄養科学研究所内			株式会社栄養科学研究所内	